

Resistensi Beberapa Isolat Bakteri terhadap Logam Berat (Hg, As, Cd, Ni, Pt dan Se)

Hartati Imamuddin✉

Balitbang Mikrobiologi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi - LIPI

ABSTRACT

Study of Some Bacteria to Heavy Metal Resistent (Hg, As, Cd, Ni, Pt and Se). The study was conducted to evaluate the resistance of some bacteria toward heavy metal (Hg, As, Cd, Ni, Pt and Se) by monitoring growth inhibition in Minimal Basal Medium (MBM) and Nutrient Broth (NB). Prior to growth inhibition study, pre selection of heavy metal resistance was determined by disk blanks methods. The results showed that AT 01, AT 03 and AT 11 were found to be heavy metal-resistent, however *Pseudomonas* sp. was a heavy metal-sensitive. The study also showed that AT 01 grew better in NB than MBM.

Key words: Resistance, heavy metal, *Pseudomonas* sp.

PENDAHULUAN

Logam berat dikenal sebagai toksikan yang potensial, tergantung dari konsentrasi dan jenis ikatan senyawa kimianya di lingkungan (Cooper, 1978). Keberadaan logam berat dalam suatu limbah akan mempengaruhi toksisitas suatu limbah yang dapat menimbulkan masalah yang serius. (Collin & Stotzky, 1992). Logam berat seperti Ag, Hg, Sn dan Cu umumnya toksik pada konsentrasi yang sangat rendah (< 1 ppm) terhadap hampir semua jenis mikroorganisme (Iverson & Brinckman, 1978). Konsentrasi logam berat yang tinggi akan menghambat pertumbuhan, mengubah morfologi dan mengganggu metabolisme dari organisme secara *in vitro* (Chander & Brookes, 1991). Organisme juga mempunyai kemampuan untuk mengembangkan daya tahan terhadap ion logam berat yang toksik.

Percobaan Chander & Brookes (1991) yang menguji daya tahan bakteri terhadap merkuri di alam, hasilnya menunjukkan bahwa bakteri yang diuji mampu tumbuh pada medium yang mengandung 6 ppm HgCl_2 . Disamping itu, Iverson & Brinckman (1978) melaporkan bahwa beberapa bakteri juga dapat mereduksi senyawa merkuri menjadi elemen merkuri Hg^0 .

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat-isolat yang resisten terhadap logam berat, karena bakteri yang didapatkan adalah mikroba heterotropik maka diharapkan dengan adanya mikroba resisten di alam dapat tahan hidup pada lingkungan tercemar logam berat dan dapat mendegradasi senyawa organik polutan.

BAHAN DAN CARA KERJA

✉ Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16122, Tel. 0251-321038, Fax 0251-32854,
E-mail : tatilief@yahoo.com

Mikroorganisme

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Isolat yang digunakan dalam penelitian

No	Isolat Bakteri	Sumber
1.	<i>Pseudomonas</i> sp.	Koleksi Balitbang Mikrobiologi – LIPI
2.	PLB1	Tanah Cipaku
3	Sp 15	Limbah Minyak
4	LT1	Limbah tekstil
5.	LT5	Limbah tekstil
6.	LT6	Limbah tekstil
7	AT 01	Sungai tercemar (Bengkulu)
8.	AT 03	Sungai tercemar (Bengkulu)
9	AT 11	Sungai tercemar (Bengkulu)

Logam Berat

Logam berat yang diujikan adalah HgCl₂, AsO₃, CdSO₄, NiCl₂·6 H₂O, Pb (C₂H₃O₂) dan Se dengan konsentrasi dari 0 sampai 5000 ppm.

Media

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah Nutrient Agar (NA) dengan komposisi : 3 g Yeast Extract, 5 g Peptone dan 20 g Bacto agar dalam 1 liter akuades.

Media untuk meremajakan isolat adalah Broth sebanyak 19 g/liter dan untuk pengujian daerah hambat adalah Muller Hinton (38 g/L). Minimal Basal Media (MBM) digunakan untuk menguji daya hambat logam berat terhadap pertumbuhan isolat-isolat yang diuji secara semi kualitatif.

Komposisi MBM adalah sbb: 6 g Na₂HPO₄, 3 g KH₂PO₄, 1 g NaNO₃, 0.05 g CaCO₃, 0.05 g MnSO₄, 0.05 g MgSO₄, 0.025 g FeSO₄·7 H₂O, 0.1 % glukosa dan 0.001 % Yeast extract (Sylvestre,

1980).

Pertumbuhan Bakteri pada media padat

Isolat ditumbuhkan pada media Broth dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. *Disk blank* direndam dalam masing-masing larutan logam berat selama 5 menit.. Setelah itu, *disk blank* ditempatkan pada petri yang berisi media Mueller Hinton yang telah ditumbuhi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya lingkaran bening (*Clearing zone*).

Pertumbuhan bakteri pada media cair

Isolat AT 01 ditumbuhkan dalam media cair MBM dan Nutrient Broth. Setelah tumbuh 3 ml suspensi bakteri tersebut ditambahkan kedalam 147 ml media yang mengandung 50 ppm HgCl₂. Pertumbuhan bakteri diamati 2 kali sehari dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 436 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Toksistas beberapa logam berat terhadap pertumbuhan isolat mikroorganisme (AT 11, AT 03 dan AT 01) ditunjukkan oleh Tabel 2. Dibandingkan dengan logam berat lainnya HgCl₂ merupakan logam berat yang paling toksik terhadap pertumbuhan mikroorganisme, karena isolat-isolat yang diuji dapat tumbuh hanya dalam konsentrasi maksimal 50 ppm. Dari tabel tersebut juga terlihat bahwa Cd juga merupakan penghambat pertumbuhan yang kuat, karena ketiga isolat yang diuji hanya mampu tumbuh pada konsentrasi CdSO₄ 50-100 ppm. Juga terlihat, bahwa Pb, Ni, As dan Se menunjukkan daya hambat yang lebih

rendah terhadap pertumbuhan AT 01, AT03 dan AT 11 dibandingkan Hg dan Cd. AT 01 mampu tumbuh sampai konsentrasi 0.5%, AT 03 pada konsentrasi 0.3% dan AT 11 pada konsentrasi 0.2% (Tabel 2). Hal ini terjadi mungkin karena isolat-isolat tersebut diisolasi dari air sungai yang tercemar dan dari lingkungan yang mengandung logam berat dengan konsentrasi tinggi. Pernyataan ini sesuai dengan pertelaan Atlas & Bartha (1981), bahwa mikroba yang hidup pada air buangan industri umumnya mempunyai daya adaptasi yang relatif tinggi terhadap lingkungan yang mengandung logam berat dengan konsentrasi tinggi.

Tabel 3. menunjukkan bahwa isolat AT 11 dan AT 03 merupakan isolat yang

paling resisten terhadap HgCl_2 , karena keduanya mampu tumbuh pada konsentrasi 50 ppm, sedangkan *Pseudomonas* sp. adalah isolat yang paling rentan karena hanya dapat tumbuh pada 8 ppm. (data tidak ditunjukkan). Kerentanan *Pseudomonas* sp. terhadap HgCl_2 ditunjukkan juga oleh Horn *et al.* (1994). Mereka melaporkan bahwa *Pseudomonas putida* mampu tumbuh hanya sampai konsentrasi 6 ppm. HgCl_2 . Selain HgCl_2 , strain *Pseudomonas* sp., yang diisolasi dari tanah, juga mampu mendegradasi metil-merkuri (Robinson & Tuovinen, 1984).

Pengaruh HgCl_2 terhadap *Pseudomonas* sp. ditunjukkan pada Tabel 3. Dari gambar tersebut tampak bahwa semakin besar konsentrasi HgCl_2 semakin besar

Tabel 2. Pertumbuhan isolat AT 01, AT 03 dan AT 11 pada media yang mengandung berbagai logam berat (Hg, Pb, Cd, Ni dan As)

Logam Berat	Konsentrasi (ppm)							Konsentrasi (ppm)				
	K	50	100	150	200	250	500	0.1%	0.2%	0.3%	0.4%	0.5%
AT 11												
Hg	+	+										
Pb	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Cd	+	+										
Ni	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
As	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Se	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
AT 03												
Hg	+	+										
Pb	+	+	+	+	+	+	+	+			+	
Cd	+	+										
Ni	+	+	+	+	+	+	+	+			+	
As	+	+	+	+	+	+	+	+			+	
Se	+	+	+	+	+	+	+	+			+	
AT 01												
Hg	-											
Pb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cd	+	+	+									
Ni	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
As	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = tumbuh

- = tidak tumbuh

pula lingkaran beningnya. Disamping itu, dapat ditunjukkan, bahwa HgCl_2 (100 ppm) daya hambat tersebar pada *Pseudomonas* sp. (18.5 mm) dan terkecil pada isolat AT 11 dengan diameter hambat 6 mm (Tabel 3). Bila dilihat pada daerah hambat HgCl_2 pada *Pseudomonas* sp. maka tampak ada korelasi positif antara

daerah hambat dengan konsentrasi HgCl_2 . Demikian juga untuk isolat-isolat yang lain. Nampaknya hasil ini tidak mengikuti hukum Arndt-Schultz yang menyatakan bahwa substansi toksik pada konsentrasi yang rendah umumnya cenderung menstimulasi daripada menekan pertumbuhan (Iverson & Brickman, 1978).

Tabel 3. Pertumbuhan beberapa isolat bakteri pada media yang mengandung HgCl_2

No.	Isolat Bakteri	Konsentrasi HgCl_2 (ppm)					
		10	20	30	40	50	100
1	<i>Pseudomonas</i> sp.	7 *	9,5 *	10 *	11 *	12,5 *	1,5 *
2	Isolat Sp. 15	0	0	0	13 *	17 *	17 *
3	Isolat LT 6	0	0	0	15 *	16,5 *	16,5 *
4	Isolat PLB 1	0	0	0	0	15 *	15 *
5	Isolat LT 5	0	0	0	0	8 *	14 *
6	Isolat LT1	0	0	0	0	9 *	12 *
7	Isolat AT 01	0	0	0	0	7 *	12 *
8	Isolat AT 03	0	0	0	0	0	13 *
9	Isolat AT 11	0	0	0	0	0	6 *

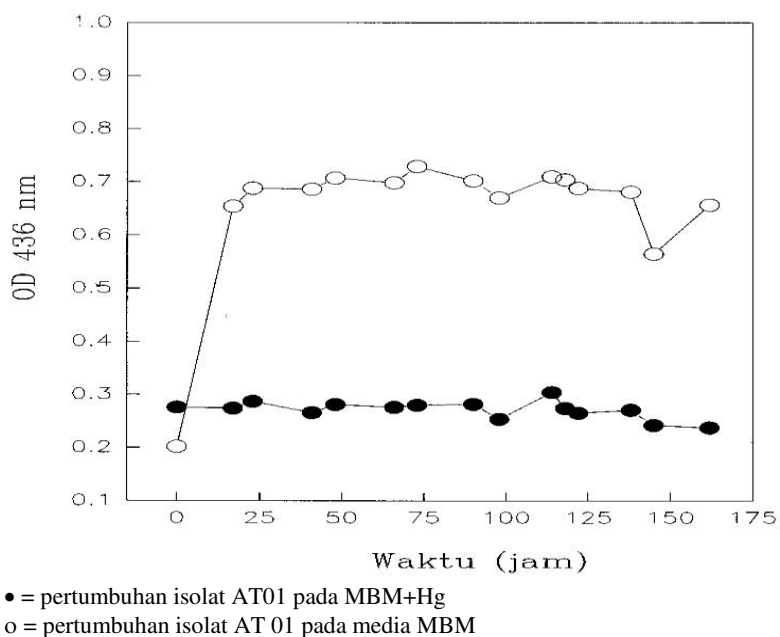
0 = tidak terbentuk "clearing zone" (ersisten) * = menunjukkan diameter "clearing zone" (mm)

Isolat-isolat lain AT 01, LT1, LT5 dan PLB1 mampu tumbuh pada 40 ppm, LT6 dan SP 15 pada 30 ppm HgCl_2 . Resistensi isolat AT 11 dan AT 03 sampai konsentrasi 50 ppm, mungkin karena kedua isolat tersebut diisolasi dari air sungai yang telah tercemar logam berat, sehingga mempunyai daya adaptasi terhadap HgCl_2 lebih tinggi dibandingkan isolat-isolat lainnya.

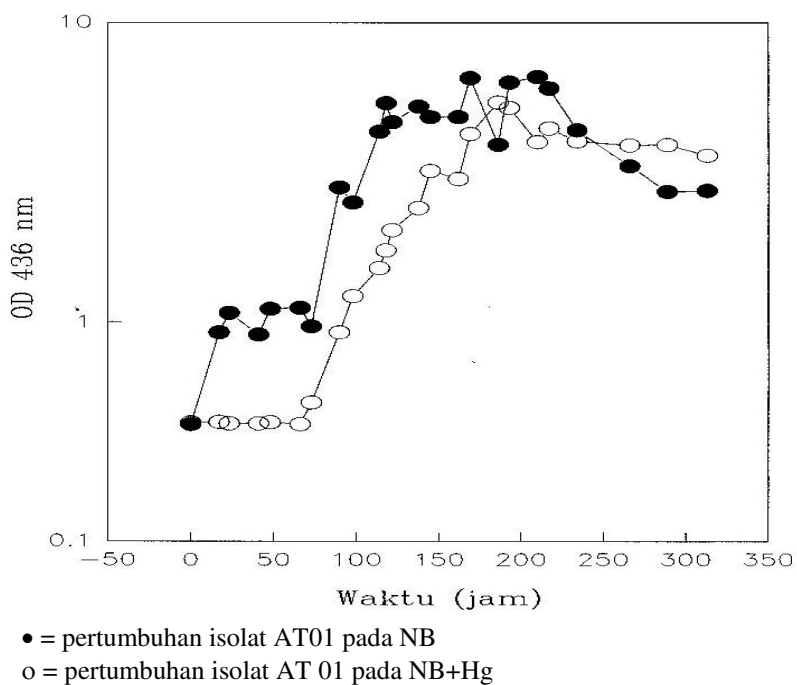
Pada Gambar 1. ditunjukkan bahwa pertumbuhan AT 01 pada media MBM (Minimal Basal Medium) yang mengandung 50 ppm HgCl_2 sedikit meningkat setelah 20 jam inkubasi, sedangkan pada kontrol pertumbuhannya meningkat pesat. Kecepatan pertumbuhan pada fase logaritmik umumnya dipengaruhi oleh keadaan fisik dan komposisi media pertumbuhan. Hal ini

menjelaskan mengapa pada kontrol setelah 20 jam pertumbuhannya masih konstan, sedangkan isolat yang ditumbuhkan pada media yang mengandung HgCl_2 pertumbuhannya jadi menurun. Fase stationer pada kedua perlakuan terlihat sangat panjang yaitu sampai dengan 120 jam masa inkubasi.

Isolat AT 01 yang tumbuh pada media NB (Nutrient Broth) dengan 50 ppm HgCl_2 menunjukkan fase lag yang panjang (75 jam), sedangkan pada kontrol (tanpa HgCl_2) AT 01 tumbuh tanpa fase lag dan meningkat pesat sampai inkubasi 25 jam, kemudian pertumbuhannya konstan sampai inkubasi 75 jam dan naik lagi sampai inkubasi ke 125 jam (Gambar 2). Bila dibandingkan fase logaritmiknya antara kontrol dan perlakuan pertumbuhannya tidak jauh berbeda



Gambar 1. Pertumbuhan isolat AT 01



Gambar 2. Pertumbuhan isolat AT 01 pada media Nutrient Broth (NB)

Demikian juga pada fase stationer. Hal ini mungkin terjadi karena AT 01 dapat beradaptasi dengan baik pada HgCl_2 bila ditumbuhkan pada NB daripada MBM; yang berarti bahwa AT 01 termasuk jenis bakteri yang bisa tumbuh hanya pada media yang spesifik. Hasil ini lebih baik bila dibandingkan dengan penelitian Robinson & Tuovinen (1984) yang menggunakan *Staphylococcus aureus* dengan media yang Nutrien Broth yang menunjukkan bahwa pertumbuhan *S. aureus* sudah terhambat oleh 10 ppm HgCl_2 .

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa isolat AT 01, AT 03 dan AT 11 mampu tumbuh pada semua logam berat yang diuji walaupun dengan konsentrasi yang berbeda. AT 01 mampu tumbuh pada 40 ppm HgCl_2 , 100 ppm CdSO_4 dan pada 5000 ppm Pb, As, Ni dan Se. AT 03 dan AT 11 mampu tumbuh baik pada 50 ppm HgCl_2 maupun pada CdSO_4 . AT 03 mampu tumbuh pada 3000 ppm, sedangkan AT 11 mampu tumbuh hanya pada 2000 ppm Pb, As, Ni dan Se. Isolat AT 01 tumbuh lebih baik pada 50 ppm HgCl_2 dengan media cair NB dibandingkan dengan pada media cair MBM.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Proyek SDH. dan yang telah memberikan dana untuk penelitian ini, kepada Dr. B. Sunarko yang telah memberikan saran dan bimbingan dalam penelitian dan penulisan, kepada

Ernawati, Yuliar dan D. Agustiyani yang telah mengijinkan biaknya untuk bahan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. & R. Bartha. 1981. *Microbial Ecology*. Addison. Wesley Publishing Company. h: 439-442.
- Chander, K. & P.C. Brookes. 1991. Microbial Biomass Dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and non-contaminated soils. *Soil. Biol. Biochem.* 23(10):917-925.
- Collins, Y.F. & G. Stotzky. 1992. Heavy Metals Alter the Electrokinetic Properties of Bacteria, Yeasts and Clay Minerals. *Appl. and Environ. Microbiol.* 58(5):1592-1600.
- Cooper, S.C. 1978. *The Textile Industry Environmental Control and Energy Conservation*. Noyes data Corporation park ridges, New Jersey. U.S.A. h: 311-313.
- Horn, F.M., M. Brunke, W.D., Deckwer & K.N.Timmis. 1994. *Pseudomonas putida* Which Constitutively Overexpresses Mercury Resistance for Biotoxification of Organomercurial Pollutants. *Appl and Environ Microbiol.* 60(1) :357-362.
- Iverson, W.P. & F.E. Brinckman. 1978. *Water Pollution Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Robinson, J.B. & O.H. Tuovinen. 1984. Mechanism of Microbial Resistance and Detoxification of Mercury and Organomercury Compounds: Physiological, Biochemical, and Genetic Analyses. *Microbiol. Rev.* 48(2) :95-124.

Resistensi Beberapa Isolat Bakteri

Sylvestre, M. 1980. Isolation Method for Bacterial Isolates Capable of Growth on p. Chlorobiphenyl.

Appl. and Environ Microbiol.
19(6):1223-1224.